

O papel da imunidade na lesão renal induzida por isquemia/reperfusão

Dissertação | Revisão Bibliográfica

Estudante

Ana Isabel Costa Ribau

Estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina

Nº aluno: 200905832

Endereço eletrónico: anaribau@gmail.com

Orientador

Anabela Soares Rodrigues

Grau Académico: Professor Auxiliar Convidado de Nefrologia do MIM do ICBAS/HGSA-
CHP

Título Profissional: Assistente hospitalar graduado

Afiliação

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar- Universidade do Porto

Rua de Jorge Viterbo Ferreira n.º 228, 4050-313 Porto, Portugal

Resumo

A lesão renal aguda é uma entidade clínica importante, uma vez que, além da sua prevalência elevada, aumenta a mortalidade intra-hospitalar e o risco de doença renal crónica.

A presente revisão tem por objetivo reunir as informações mais pertinentes sobre o papel da imunidade aquando de uma lesão renal induzida por isquemia/reperfusão, bem como discutir as perspetivas de tratamento futuro.

A lesão de isquemia/reperfusão envolve alterações hemodinâmicas e pode ser definida como o conjunto de lesões decorrentes da privação e do restabelecimento do suprimento de oxigénio a órgãos e tecidos. Na base da patogenia desta lesão está uma resposta inflamatória mediada tanto pela imunidade inata como pela adquirida.

Neste processo está envolvida a disfunção endotelial com acumulação de várias citocinas pró-inflamatórias, a acumulação de neutrófilos, macrófagos e linfócitos T, assim como uma complexa interação entre todas as células da imunidade. A resposta imune no rim pós-isquémico irá contribuir para o dano ou proteção renal determinando a lesão final.

Atualmente, sabe-se que apesar da recuperação da taxa de filtração glomerular, a lesão renal aguda não é um evento sem consequências, sendo que fenómenos profibróticos em conjunto com o ambiente de hipóxia perpetuado sugerem um contínuo entre lesão renal aguda e doença renal crónica.

Com todo este conhecimento são várias as fases da lesão em que potencialmente se pode intervir. Nesta revisão é dado ênfase ao pré-condicionamento, o qual se baseia na indução de uma lesão não letal com vista à proteção aquando de uma nova agressão. Apesar de ainda não ser completamente compreendido, sabe-se que os linfócitos T e principalmente as células T reguladoras desempenham um papel marcante na proteção adquirida, acentuando a relevância da imunidade no processo de lesão renal aguda. O conceito de pré-condicionamento assenta na mediação imunológica das células T reguladoras como estratégia preventiva.

Palavras-chave:

Lesão renal aguda, resposta imunitária, patofisiologia, insulto isquemia/reperfusão, doença renal crónica, inflamação, pré-condicionamento.

Abstract

Acute renal failure is an important clinical condition because, besides its high prevalence, it increases the intra-hospital mortality and risk of chronic renal disease.

This review aims to assemble the most relevant information on the role of immunity during a kidney injury caused by ischemia/reperfusion, and discuss prospects for future treatment.

The ischemia/reperfusion injury involves hemodynamic changes and can be defined as the aggregation of injuries resulting from deprivation and restoration of oxygen supply to organs and tissues. On the basis of the pathogenesis of this lesion is an inflammatory response mediated by both innate and acquired immunity.

In this process is involved an endothelial dysfunction with accumulation of various proinflammatory cytokines, accumulation of neutrophils, macrophages and T lymphocytes, as well as a complex interaction between all immunity cells. The immune response in the post-ischemic kidney will contribute to the damage or renal protection determining the final injury. Currently, it is known that despite recovery of the glomerular filtration rate, acute renal injury is not an event free of consequences, and pro-fibrotic events plus hypoxia perpetuated environment suggest a continuum between acute renal failure and chronic kidney disease.

With all this knowledge there are various injury stages where intervention is possible. In this review is given emphasis to preconditioning. This is related to the induction of a non-lethal injury to get protection after undergoing further aggression. Although not yet fully understood, it is known that T lymphocytes and mainly regulatory T cells play an important role on the acquired protection, which emphasizing the relevance of immunity in acute kidney injury. The concept of preconditioning is based on immune-mediated T reg response as a preventive strategy.

Key-words:

Acute Kidney injury, immune response, pathophysiology, ischemia/reperfusion injury, chronic renal disease, inflammation, preconditioning.

Conteúdo

Resumo	2
Abstract	3
Material e Métodos	5
A lesão por isquemia/reperfusão – enquadramento	6
A lesão por isquemia/reperfusão como um processo inflamatórios	9
O papel da imunidade inata.....	11
Neutrófilos	11
Macrófagos	12
Células <i>Natural Killer</i>	13
A ativação da cascata do complemento.....	13
Coagulação e ativação plaquetária	13
O papel da imunidade adquirida.....	15
Células dendríticas	15
Linfócitos T	15
As células T reguladoras	16
A lesão por isquemia/reperfusão e progressão para doença renal crónica	18
Perspetiva de tratamentos futuros.....	20
Pré-condicionamento.....	21
Pré-condicionamento isquémico remoto	22
Conclusão	24
Bibliografia.....	25

Material e Métodos

A bibliografia utilizada para a realização da presente revisão foi conseguida através da pesquisa em bases de dados eletrônicas, nomeadamente MEDLINE-PubMed e vários jornais médicos, com as palavras chave desta revisão (na língua inglesa). A pesquisa foi realizada entre setembro 2014 e abril 2015. Dos artigos encontrados, a escolha foi feita com base no título e/ou resumo, sendo que subsequentemente foram consultados artigos mencionados nas referências bibliográficas assim obtida.

A lesão por isquemia/reperfusão – enquadramento

A lesão renal aguda (LRA) definida anteriormente como insuficiência renal aguda é a diminuição súbita da função renal, com subsequente retenção de produtos do metabolismo do azoto e alterações do equilíbrio ácido-base e hidro-eletrolítico. Esta condição é comum em pacientes hospitalizados e associa-se a um pior prognóstico, sendo que as opções terapêuticas são ainda insatisfatórias. A falta de um consenso na sua definição dificultou estudos aprofundados de base epidemiológica.(1)

Um estudo Norte Americano mostrou que esta condição apresenta uma frequência de 1,9% em pacientes hospitalizados, sendo especialmente comum em pacientes críticos e apresentando uma prevalência superior a 40% quando se fala na admissão de paciente com sepsis na unidade de cuidados intensivos.(2) Noutra bibliografia, pode-se encontrar que, em países desenvolvidos, a LRA tem uma incidência de 5-7% em internamentos hospitalares e de 30% em internamentos na unidade de cuidados intensivos.(3) A associação entre o desenvolvimento de LRA e o aumento da mortalidade intra-hospitalar é conhecida há décadas e foi relatada em vários estudos. No entanto, só recentemente, se verificou um risco substancialmente aumentado de doença renal crónica (DRC) após uma LRA.(4) (5)

Em 2004, na tentativa de uniformização de conceitos, um grupo de nefrologistas e intensivistas, *Acute Dialysis Quality Initiative* publicou a classificação RIFLE. Esta classificação assenta num acrónimo em que R se refere a *Risk*, risco de disfunção renal, I se refere a *Injury*, lesão renal, F se refere a *Failure*, falência da função renal, L se refere a *Loss*, perda da função renal, e, por fim, E se refere a *End stage renal disease*, doença renal em estadio terminal. Segundo esta classificação, as três primeiras classes são avaliadas por mudanças relativas ou do nível sérico da creatinina ou do valor da taxa de filtração glomerular, sempre em relação ao nível basal do paciente, podendo ainda ser avaliadas pela redução do fluxo urinário. As duas últimas classes são definidas pela duração da perda da função renal. De entre os parâmetros (mudança relativa do nível de creatinina sérica, taxa de filtração glomerular e o fluxo urinário), o mais alterado será o que definirá a gravidade da LRA. Segundo esta classificação, para se tratar LRA é ainda necessário que as alterações da função renal sejam súbitas (1 a 7 dias) e sustentadas (mais de 24 horas). (Tabela 1) (6)

	Taxa de filtração glomerular	Débito urinário
<i>Risk</i>	Aumento da creatinina 1,5 vezes Diminuição >25% da taxa de filtração glomerular	<0.5 ml/kg/h por >6 horas
<i>Injury</i>	Aumento da creatinina 2 vezes Diminuição >50% da taxa de filtração glomerular	<0.5 ml/kg/h por >12 horas
<i>Loss</i>	Aumento da creatinina 3 vezes Diminuição >75% da taxa de filtração glomerular Aumento da creatinina ≥ 4 mg/dl com aumento agudo de pelo menos 0,5mg/dl	<0.3 ml/kg/h por >24 horas ou Anúria por >12 horas
<i>Failure</i>	Perda completa da função renal por mais de 4 semanas	
<i>End stage renal disease</i>	Doença renal em estadio terminal	

Tabela 1 – Classificação RIFLE de Lesão renal aguda (6)

Posteriormente em 2007, surge uma versão modificada da classificação RIFLE, proposta pelo grupo *Acute Kidney Injury Network* (AKIN). Assim, deixa de ser necessário o valor basal de creatinina sérica, podendo este ser substituído por duas medições da creatinina sérica num intervalo de 48 horas. A LRA é assim definida pela redução súbita (em 48 horas) da função renal, sendo necessário um aumento absoluto do valor da creatinina sérica igual ou superior a 0,3 mg/dl, ou um aumento percentual da creatinina sérica para 150%, ou uma diminuição da diurese (oligúria de no mínimo 0,5 ml/kg/h) por um período superior a 6 horas. A classe R passa a corresponder ao estadio 1, a classe I ao estadio 2 e a classe F ao estadio 3, sendo que este inclui ainda qualquer LRA que necessite de terapia de substituição da função renal. A classe L e E foram abolidas. (tabela 2) (7)

Estadio	Creatinina sérica	Débito urinário
1	Aumento $\geq 0,3$ mg/dl ou aumento 150-200%	$<0,5$ mg/Kg/h por >6 horas
2	Aumento 200-300 %	$<0,5$ mg/Kg/h por >12 horas
3	≥ 4 mg/dl com aumento agudo de pelo menos 0,5mg/dl Aumento $\geq 300\%$ valor da primeira medição	$<0,3$ mg/Kg/h por 24 horas Anúria ≥ 12 horas Todos que recebam terapia de substituição renal

Tabela 2 – Classificação AKNI de Lesão renal aguda (7)

Esta definição continua a ser insuficiente uma vez que é dependente da medição da creatinina sérica. Espera-se que no futuro a identificação de novos biomarcadores mais precoces permita reconhecer a LRA antes da elevação da creatinina estar presente.(8)

A lesão por isquemia/reperfusão (I/R) é uma das principais causas de LRA tanto em rins transplantado como em rins nativos, sendo que, além de poder ocorrer no contexto de transplante em que a isquemia e reperfusão são inevitáveis, também pode advir de uma diminuição da perfusão renal, por exemplo, durante uma grande cirurgia ou no contexto de sepsis. (9)

A lesão I/R é uma condição inflamatória, multi-fatorial, independente de antígenos. A isquemia decorre da irrigação sanguínea insuficiente que leva, não só a privação de oxigénio e nutrientes, mas também, à acumulação de metabolitos celulares e dióxido de carbono. Durante este processo há uma ativação do endotélio com um aumento da permeabilidade e expressão de várias moléculas de adesão. Estas moléculas terão um papel importante no tecido pós-isquémico, levando à formação de uma superfície trombogénica e aderente. Posteriormente, durante a reperfusão, as células endoteliais primeiramente sensibilizadas pela isquemia ficam propensas à adesão de leucócitos e plaquetas, aumentando ainda mais a permeabilidade endotelial e a ativação celular. Os leucócitos aderentes libertam espécies reativas de oxigénio e uma variedade de citocinas, reforçando a cascata de eventos inflamatórios. Assim, a resposta inflamatória iniciada com a isquemia inicial é acelerada pela reperfusão do rim. A deterioração do tecido com perda de integridade após a reperfusão é definida como lesão I/R. (10)

A lesão por isquemia/reperfusão como um processo inflamatórios

O rim apesar de ser um órgão de pequenas dimensões recebe cerca de 25% do débito cardíaco, uma vez que é responsável por manter a pressão arterial e o equilíbrio eletrolítico através da filtração glomerular. Este órgão possui ainda mecanismos compensatórios que lhe permitem manter a pressão hidrostática glomerular e, conseqüentemente, a taxa de filtração glomerular quando a pressão arterial flutua entre 80 e 180 mmHg. (11)

O transporte tubular no ramo ascendente fino medular e no segmento S3 do túbulo contornado proximal é ativo pelo que exige grande demanda de oxigénio. No caso do aporte de oxigénio não ser suficiente, o balanço do oxigénio é mantido diminuindo a taxa de filtração glomerular e o transporte ativo de solutos no ramo ascendente fino. Esta compensação é prejudicada pela produção de radicais de oxigénio que diminuem ainda mais o fluxo medular e aumentam o transporte ativo no ramo ascendente fino. (12)

Os mecanismos envolvidos na patogenia da lesão renal I/R são múltiplos e envolvem uma cascata complexa de eventos com conseqüências tanto agudas como crónicas. (13)

Encarando a lesão I/R como uma patologia inflamatória é de destacar a contribuição das alterações da barreira endotelial com aumento da permeabilidade, a infiltração leucocitária e a produção de mediadores inflamatórios pelas células tubular. (14)

A lesão I/R resulta em desorganização da integridade endotelial com áreas de desaparecimento parcial e desnudação das fronteiras célula-célula. Esta lesão compromete ainda a função de barreira do endotélio na microcirculação renal, como foi mostrado pela fluorescência dextrans e imagem intravital de dois fotões. (15)

A lesão I/R resulta num aumento da regulação das diferentes moléculas de adesão que promovem as interações endotélio-leucócitos. Estas moléculas de adesão incluem as seletinas, integrinas e membros da superfamília das imunoglobulinas, incluindo a molécula de adesão intracelular-1 (ICAM-1), a molécula de adesão celular vascular (VCAM), e P-seletina. Tem sido demonstrado um aumento da expressão da ICAM-1 pelo endotélio vascular do rim isquémico, que parece ter um papel na fisiopatologia do desenvolvimento de disfunção renal. Esta hipótese é apoiada por estudos que demonstram que anticorpos neutralizantes anti-ICAM-1 melhoram significativamente o resultado da isquemia renal. Por fim, ratos sem ICAM-1 estão protegidos contra a LRA isquémica. (16)

Além disto, em resposta ao insulto de I/R, o epitélio tubular renal gera mediadores que lesam

o endotélio ou diretamente ou pela indução de inflamação. Estes mediadores incluem citocinas pró-inflamatórias, tais como fator de necrose tumoral α (TNF- α), interleucinas (IL) como a IL-1, IL-6 e IL-8 e fatores transformadores do crescimento (TGF); quimiocinas incluindo monócitos proteína-1, quimiocina ligando 5 (CCL5), e a fractalcina (CX3CL1). (17)

Uma das consequências da libertação de citocinas e quimiocinas é a indução da óxido nítrico sintase (NOS) em células epiteliais e endoteliais. Verificou-se que a inibição seletiva da óxido nítrico sintase induzível (iNOS) protege a função renal aquando do insulto I/R. Além disso, demonstrou-se que os ratinhos sem iNOS têm um menor grau de lesão renal após o insulto I/R. (16)

Sistematizando, o insulto isquémico afeta tanto as células endoteliais como as células epiteliais do rim. Nas células epiteliais verifica-se a formação de espécies reativas de oxigénio (ROS) com consequentes danos no DNA, apoptose, e até necrose tubular aguda (NTA). Em células endoteliais, o insulto isquémico induz a expressão de moléculas de adesão, o que aumenta a aderência e migração de células circulantes pró-inflamatórias com consequente produção excessiva de óxido nítrico (NO). O NO e os ROS formam peroxinitrito (ONOO), que é diretamente responsável por danificar o DNA levando a apoptose tanto no endotélio como no epitélio. A perda da integridade do endotélio desempenha um papel importante na patogénese da LRA porque reduz ainda mais a microcirculação, já comprometida pelo insulto isquémico. (16)

Toda esta cascata inflamatória iniciada pela disfunção endotelial pode ser aumentada drasticamente pelo túbulo proximal. Este liberta várias moléculas pró-inflamatórias que incluem citocinas, semelhantes aquelas libertadas pelo endotélio e quimiotaxiocitocinas como, por exemplo, proteína atraente de monócitos (MCP-1), IL-8 e CCL5. Vários estudos em humanos foram já publicados demonstrando que os níveis de citocinas pró-inflamatórias, IL-6 e IL-8 no plasma são preditores da mortalidade em pacientes com LRA. (18)

O papel da imunidade inata

O sistema imune inato é a primeira linha de defesa contra a agressão. Todas as células do sistema imune inato como neutrófilos, monócitos, macrófagos, células dendríticas e *natural killers* expressam recetores de reconhecimento de padrão (PPR). (19) Este grupo de recetores inclui os *Toll-like* (TLR), os *NOD-like* (NLR) e os da lectina tipo C (CLR). Tais recetores respondem aos parceiros moleculares associados ao dano (DAMPs) que sinalizam uma agressão não infecciosa e são libertadas do compartimento intracelular durante o insulto I/R e que, em conjunto com o fator induzido por isquemia (HIF), ativam e recrutam o sistema imune. (20)

A fase precoce da resposta imune inata ao insulto I/R depende de vários tipos celulares (tabela 3).

Célula	Consequências após insulto I/R
Neutrófilos	- infiltração no rim pós-isquémico - obstrução microvascular - secreção de radicais de oxigénio e proteases
Macrófagos	- M1: pró-inflamatórios; papel ativo na lesão - M2: anti-inflamatórios; participam na reparação
Natural Killers	- Medeiam a apoptose das células tubulares epiteliais
Complemento	- MAC; lise de células parenquimatosas - MBL; participa ativamente na lesão
Coagulação	- <i>Immunothrombosis</i> - Trombina: induz a libertação de citocinas - Formação de microtrombos

Tabela 3. Resumo do papel da imunidade inata

Neutrófilos

Aquando de uma lesão, os neutrófilos são os primeiros a ser recrutados, além de representarem a maior fração de leucócitos circulantes.(21) Após transmigrarem o endotélio, os neutrófilos libertam grânulos contendo proteases e iniciam um processo chamado “explosão respiratória” que implica a libertação de radicais de oxigénio. Os neutrófilos

libertam ainda citocinas e quimiocinas que recrutarão leucócitos adicionais. Além disto, os neutrófilos têm a capacidade de produzir armadilhas extracelulares dos neutrófilos (NETs).(22) Convencionalmente, os NETs são responsáveis por capturar e eliminar o agente patogênico durante a infecção mas recentemente foi demonstrado que estes estão também envolvidos na lesão I/R cardíaca. De fato, os ratos *knock-out* incapazes de produzir NETs estão protegidos das consequências da isquemia cardíaca. (23)

A infiltração de neutrófilos foi demonstrada após a isquemia renal em ratos e verificada em biópsia de pacientes com LRA isquêmica recente. Vários estudos posteriores tentaram comprovar a eficácia do tratamentos com anticorpo monoclonal que inibe a adesão dos neutrófilos, no entanto os resultados mostraram-se discrepantes. Apesar das divergências, é consensual que os neutrófilos participam na LRA por I/R através da obstrução microvascular, secreção de radicais de oxigênio e proteases, contudo não desempenham um papel tão marcante a nível renal como aquele demonstrado a nível cardíaco. (24)

Macrófagos

Os fagócitos mononucleares representam o grupo de derivados de monócitos, os macrófagos e as células dendríticas.(25) Os monócitos circulantes são chamados ao local de lesão pela quimiotaxia, sendo que neste local se diferenciam em macrófagos tecidulares ou células dendríticas.

Os macrófagos apresentam um elevado grau de plasticidade sendo que assumem um fenótipo pró ou anti-inflamatório de acordo com o microambiente.(26) Assim os macrófagos podem assumir uma polarização M1 (pró-inflamatória) ou M2 (anti-inflamatórias). A ligação do interferão γ aos recetores transmembranares promove a polarização M1, enquanto que a presença de IL-10 promovem M2.(27)

Na lesão por I/R, os macrófagos são expostos a um ambiente inflamatório nas primeiras 48 horas pelo que assumem uma polarização M1, sendo que posteriormente com a alteração do ambiente serão recrutados M2. A polarização M1 potencia a inflamação através da produção de citocinas. Um estudo animal mostrou que a depleção de macrófagos antes do insulto de I/R diminui a lesão. Por outro lado, quando os macrófagos são esgotados dias após a lesão, observa-se um prejuízo na reparação tubular, associada à depleção de macrófagos M2. (28)

Células *Natural Killer*

Células *Natural Killer* (NK) são linfócitos citotóxicos capazes de distinguir entre *self* e *nonself* pela ativação ou inibição de recetores de superfície.(29) O papel específico das células NK na lesão por I/R ainda não está totalmente esclarecido, sendo que, até ao momento, existem poucos relatos sobre o papel destas células na LRA. Um estudo relatou um contributo direto das NK para LRA isquémica através da apoptose de células tubulares renais, sendo que, no mesmo estudo, se verificou que a depleção das células NK atenua a lesão renal após insulto por I/R.(24) Posteriormente foi demonstrado que na lesão renal por I/R, as NK são recrutadas pelo aumento do ligante do recetor CCR5, produzido pelas células do epitélio tubular após a ligação de DAMPs a TLR2. Assim, as células do epitélio tubular após insulto por I/R regulam a quimiotaxia de NK, mediando portanto a própria apoptose. (30)

A ativação da cascata do complemento

O sistema do complemento pode ser iniciado por três vias: a clássica, a alternativa, e a via das lectinas. Estas vias são compostas de proteínas precursoras que podem ser ativadas enzimaticamente. Apesar da ativação das diferentes vias ser feita de maneira distinta, eles convergem com a ativação da C3 convertase, levando à formação do complexo de ataque à membrana (MAC), C3a e C5.(31) Aquando da lesão de I/R o MAC possui a capacidade de lisar as células parenquimatosas e o C3a e C5 promovem o recrutamento de leucócitos e a produção de citocinas pró- inflamatórias.(32) Outras funções dos componentes do complemento ativados incluem quimiotaxia e opsonização. (33)

Em vários estudos tem sido demonstrado um papel importante da ativação da via das lectinas pela lectina ligadora de manose (MBL) na lesão I/R. (34)

Num estudo animal, a inibição terapêutica de MBL através da administração de um anticorpo monoclonal contra MBL-A (P7E4) mostrou-se protetora na lesão I/R. A lesão tubular mediada pela MBL parece ser independente da ativação do complemento, uma vez que interferir com C3 ou C5 não mostrou os mesmos efeitos protetores contra lesão I/R, suportando o efeito citotóxico direto de MBL.(35)

Coagulação e ativação plaquetária

Classicamente a coagulação e a ativação plaquetária têm sido analisadas separadamente das

respostas imunes. No entanto, recentemente, tem sido observado que a imunidade inata e a trombose agem em conjunto num processo denominado *immunothrombosis*.(36) Segundo este conceito as células da imunidade inata induzem trombose, enquanto as plaquetas e as vias da coagulação são capazes de ativar uma resposta imune inata.

Os monócitos e neutrófilos, células da imunidade inata, secretam microvesículas contendo fator tecidual (FT). Quando libertadas estas microvesículas promovem a coagulação através da via extrínseca, enquanto NETs produzidos pelos neutrófilos promovem a coagulação pela via intrínseca. Por outro lado, os recetores ativados por proteases (PARS), expresso em todas as células da imunidade inata, são ativados por proteases da coagulação, como a trombina, levando à indução de citocinas pró-inflamatórias.(37) Além disso, as plaquetas libertam trombina em resposta à libertação de DNA das células necróticas, mediada pela ligação a TLR2 e TLR4. (38) Outra evidência desta interação é o recrutamento de neutrófilos pela serotonina libertada das plaquetas. (39)

Num modelo de lesão renal por I/R a inibição do FT reduz a lesão através da redução da formação de microtrombos.(40) Foi também demonstrado que a deficiência de PAR-1 protege contra a lesão I/R. (41)

O papel da imunidade adquirida

A resposta imune adquirida ocorre ao longo de vários dias e inclui maturação de células dendríticas e proliferação e ativação de linfócitos T e células T reguladoras (tabela 4).

Células	Consequências após insulto I/R
Células dendríticas	Recrutam a imunidade adquirida Produzem citocinas pró-inflamatórias
Linfócitos T	Acúmulo no rim verificado em biopsia humana Th1 (CD4+) patogénese Th2 (CD8+) protetoras
T reguladoras	Diminuição de T reg CD4+, CD25+, FoxP3+ potencia a lesão Aceleram o processo de reparação

Tabela 4 - Resumo do papel da imunidade inata

Células dendríticas

As células dendríticas são os leucócitos mais abundantes no rim. Após a estimulação pelo insulto I/R as células dendríticas podem converter-se em células maduras caracterizadas por altos níveis de complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe II e moléculas co-estimuladoras, com elevada capacidade de produção de citocinas e baixa capacidade fagocitária. Após esta maturação, as células dendríticas migram para os gânglios linfáticos de drenagem renais e induzem a proliferação de célula T num forma antígeno próprio (fragmentos de peptídeos da própria célula apresentados pelo MHC) específico.(25) Deste modo, as células dendríticas desempenham um papel importante na lesão renal pois recrutam a imunidade adquirida após o insulto de I/R, além de produzirem várias citocinas pró-inflamatórias.(42)

Linfócitos T

Em 2000 um estudo de follow-up em ratinhos demonstrou que, in vitro, ratinhos com deficiência tanto em células T CD 4+ como T CD8+ tem uma lesão atenuada aquando do insulto de I/R, visto que apresentam baixos níveis de creatinina e menor índice de lesão

tubular quando comparados com o controlo.(43)

Posteriormente, na tentativa de perceber o papel das células T na lesão por I/R verificou-se que ratinhos sem timo e CD4^{-/-} estão relativamente protegidos da lesão de I/R e que a transferência de células T para estes ratinhos leva a lesão, ficando assim demonstrado o papel direto das células T na lesão renal por I/R.(44)

Estes estudos animais são concordantes com os achados em biopsias renais humanas em que se verificava um acúmulo de células T na vasa reta medular de rins com LRA por I/R. (13)

Com o avanço dos estudos e com a demonstração do papel da inflamação nesta lesão foi pressuposto que as células CD4⁺, que funcionalmente se diferenciam em TH1, produtoras de IFN, seriam patogénicas e as TH2, produtoras de IL 4 protetoras. Para verificar este pressuposto foram realizados estudos em ratinhos deficientes na produção de IFN e de IL-4. Assim, verificou-se que aqueles em que a produção de IFN é deficiente estão protegidos e que aqueles em que a produção de IL 4 é deficiente estão sujeitos a um curso mais severo aquando do insulto I/R.(45)

Foi ainda demonstrado que a transferência de linfócitos T de um ratinho dador com LRA por I/R, fibrose e inflamação significativa, para um ratinho normal, leva ao desenvolvimento de albuminúria. (46)

As células T têm um papel complexo na LRA, sendo que podem ser protetoras ou patogénicas dependendo do fenótipo apresentado.

As células T reguladoras

As células T reguladoras (Treg) são linfócitos com propriedades imunossupressoras. Um importante subconjunto de células Treg expressam CD4 e CD25 na superfície celular e o fator de transcrição, Foxp3, sendo que o número destas células aumenta gradualmente após LRA. (47)

Ratinhos tratados com anticorpo monoclonal anti-CD25 (PC61) que diminui as T reg CD4⁺, CD25⁺ FoxP3⁺ nos rins, baço e sangue para cerca de 50%, apresentam uma potenciação da lesão por I/R medida pelos níveis de creatinina no plasma, necrose tubular aguda (NTA), acumulação de neutrófilos e de macrófagos e transcrição de citocinas pró-inflamatória no rim após 24 horas de reperfusão, o que comprova a importância das células T reg. (48)

Um estudo complementar em que as Treg são infundidas num ratinho 24 horas após a LRA por I/R verificou uma melhoria significativa na reparação tubular. Verificou-se ainda que as

Treg diminuem a produção de citocinas inflamatórias por outras células do sistema imune, um mecanismo possível a justificar o seu papel na aceleração dos processos de reparação após insulto por I/R. (49)

Muitos são os estudos animais que mostram que as Treg constituem um mecanismo vital de defesa contra a inflamação e LRA, mostrando ainda que a regulação com aumento ou diminuição do número de Treg confere proteção ou suscetibilidade para LRA, respetivamente. (50)

A lesão por isquemia/reperfusão e progressão para doença renal crônica

O insulto isquêmico agudo resulta primariamente em danos tubulares. A reparação destes danos é conseguida por um conjunto de eventos que culminam com a hipertrofia de uma nova população de células do túbulo proximal. Tipicamente, a taxa de filtração glomerular retorna aos seus valores basais uma semana após o insulto e a completa recuperação do túbulo proximal observa-se no final de 4 semanas.(51) Apesar das alterações que ocorrem durante a I/R e do processo de recuperação precoce estarem bem estudadas, recentemente tem-se dado ênfase às alterações tardias.

Ao contrário do postulado classicamente, episódios clínicos de lesão renal aguda podem ter implicações duradouras, sendo que os novos dados sugerem que estes episódios aumentam a probabilidade de desenvolvimento posterior de DRC e doença renal terminal.(4,5,52)

Coca et al., numa metanálise de 2002 concluiu que a LRA é um fator de risco independente para DRC, doença renal terminal, morte e complicações não renais importantes.(4)

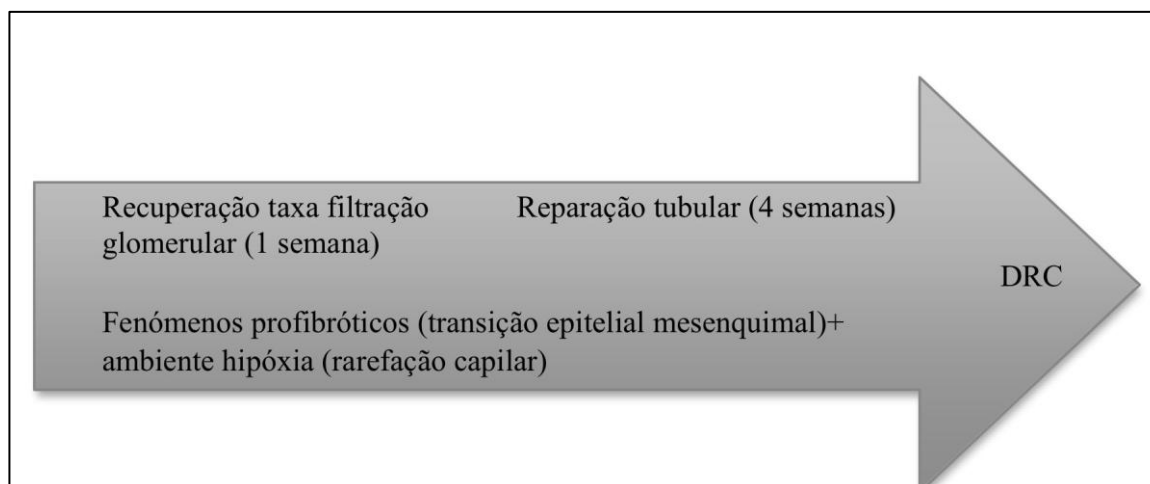
Dado que a lesão renal por I/R desencadeia uma resposta inflamatória, o recrutamento de citocinas profibróticas tais como fator de crescimento transformante 1, leva à indução de uma resposta de transição epitelial mesenquimal, ou seja a transformação das células do epitélio e do endotélio renal em miofibroblasto. (53)

Assim, a matriz produzirá fibroblastos e miofibroblastos, que consequentemente causarão lesão tubulointersticial e atrofia. A marca histopatológico de doença renal crônica é a fibrose tubulointersticial, e o grau de fibrose é o melhor preditor de progressão para a fase final de doença renal. (54)

No entanto, esta fibrose não é suficiente para provocar a perda de função do rim. O insulto renal agudo levará à perda da microcirculação com rarefação dos capilares peritubulares, o que perpetua um ambiente de hipóxia. Deste modo, em adição aos fenómenos profibróticos, a hipóxia reduz a expressão e atividade das metaloproteínas de matriz, como o colagénio e metaloproteinase-1 pelo que a degradação da matriz é suprimida. (55)

Estudos em animais mostraram uma redução permanente da densidade capilar peritubular após a recuperação da lesão renal por I/R, apoiando a hipótese de que o insulto isquêmico agudo leva a um estado de hipóxia crônica . Além de que em biopsias de pacientes com doença renal crônica é possível verificar uma rarefação dos capilares peritubulares.(51)

Assim, a LRA é agora encarada como uma enfermidade que apesar de aguda poderá acarretar danos futuros. (esquema 1)



Esquema 1- Perpetuação da lesão renal aguda

Perspetiva de tratamentos futuros

Atualmente, não há um tratamento específico após a LRA se encontrar estabelecida. A terapia limita-se a tratamento de suporte, incluindo o tratamento de substituição renal.(3)

Vários agentes foram clinicamente testados, no entanto todos eles falharam. De entre estes destaca-se a dopamina, o péptido natriurético auricular e os diuréticos de ansa. A dopamina em doses baixas (1-3 µg/kg/min) tem sido amplamente usada nas unidades de cuidados intensivos, dado que se presume que confira renoproteção. Este pressuposto foi assumido uma vez que, em estudos animais e em estudos com voluntários humanos saudáveis, se verificou que esta provoca um aumento no fluxo sanguíneo renal e promove a diurese, podendo assim melhorar a LRA. Contudo, uma meta-análise sobre o benefício da utilização da dopamina na prevenção e tratamento de LRA mostrou que esta não desempenha qualquer papel, o que poderá levar ao abandono desta terapêutica. O péptido natriurético auricular é capaz de aumentar a taxa de filtração glomerular pela vasodilatação da arteríola aferente e inibição do sistema renina-angiotensina, além de bloquear a reabsorção tubular de sódio. Assim, há vários ensaios clínicos para avaliar o efeito do péptido natriurético auricular no tratamento de LRA, no entanto, ainda não foi demonstrado o seu benefício. Por fim, os diuréticos de ansa eram utilizados frequentemente no curso de LRA com vista a converter uma LRA oligúrica em não oligúrica, dado que a LRA não oligúrica está associada a melhor prognóstico.(56) Controversamente, uma meta-análise mostrou que a furosemida não reduz a mortalidade intra-hospitalar, nem a necessidade de terapia de substituição renal, não sendo efetiva no tratamento de LRA.(57) A furosemida aumenta o débito urinário mas não comporta benefícios objetiváveis no tratamento de LRA. Assim, no presente, o seu uso é restrito ao controlo da sobrecarga de volume.(56)

Aquando da descoberta das novas moléculas envolvidas no processo de LRA novos tratamentos poderão ser possíveis. Estudos em modelos animais de LRA de I/R e séptica mostram que diminuir a expressão de moléculas de adesão intercelular (aumentadas na inflamação, como atrás descrito) atenuam a lesão renal, preservando a função.(12) Também a nível endotelial têm sido feitos vários os estudos em modelos animais que mostram estratégias eficazes na redução da lesão após insulto de I/R. Dentre estas destacam-se a administração de ácido aspártico arginina-glicina ,capaz de diminuir a adesão de células inflamatórias ao endotélio; a limpeza de radicais de oxigénio; o siRNA capaz de diminuir a produção de NO pela iNOs.(16)

O tratamento com células-tronco mesenquimais encontra-se já em fase 2 de ensaios clínicos, sendo que foi avaliada a recuperação do rim após uma única injeção de células mesenquimais derivadas de medula óssea alogénica em pacientes que sofreram lesão renal 48 horas após cirurgia cardíaca. (58)

As estatinas surgem também como um tratamento promissor dado que vários estudos mostram o seu efeito protetor em animais. A atorvastatina após LRA por I/R tem efeito anti-inflamatório e antioxidante. Um estudo de 2014 sugere que a atorvastatina administrada após LRA por I/R reduz o dano e promove a recuperação da função renal, no entanto, até ao momento apenas existem ensaios animais. (59)

São vários os tratamentos promissores (tabela 5), no entanto, nesta revisão será dado ênfase ao pré-condicionamento.

Estratégias clínicas utilizadas na LRA	Estratégias experimentais * na LRA
Dopamina	Ácido aspártico arginina-glicina
Diuréticos de ansa	Limpeza de radicais
Péptido Natriurético auricular	siRNA
	células-tronco mesenquimais
	Estatinas (atorvastatina)
Sem tratamento específico atualmente	
Tratamento de suporte	

Tabela 5 – Tratamento farmacológico de lesão renal aguda. *com resultados em modelos animais

Pré-condicionamento

Embora a lesão por I/R seja uma das principais causas de LRA, verificou-se que episódios de isquemia não-letal podem proteger os rins contra futuras lesões isquémicas, surgindo assim o conceito de pré-condicionamento isquémico. Este conceito refere-se a sujeitar o rim a um ambiente de hipóxia não-letal de modo a fornecer proteção contra uma futura lesão isquémica. Em ratos, verificou-se que um primeiro episódio de isquemia renal seria protetor contra o desenvolvimento de LRA após um segundo episódio.(60)

Num estudo, em que a isquemia renal bilateral foi provocada durante 30 minutos, levando ao aumento dos níveis séricos de ureia e creatinina, verificou-se proteção renal aquando de um novo insulto, 8 a 15 dias mais tarde, sendo que se verificou ainda que a duração da isquemia inicial confere diferentes graus de proteção aquando do insulto subsequente.(60)

Um estudo de Ascon et al. demonstrou que os linfócitos T têm um papel na proteção conferida pelo pré-condicionamento. Neste estudo fez-se a transferência de linfócitos de rim de um rato submetido a pré-condicionamento para um rato deficiente em células T, verificando-se que este fica protegido contra lesão I/R. Tal sugere que o pré-condicionamento causa a acumulação renal de linfócitos protetores (com fenótipo anti-inflamatório).(61)

O estudo de Gandolfo et al. demonstrou o acúmulo de células T reg após uma lesão de I/R severa. O rim de ratinhos submetidos a pré-condicionamento apresenta um número muito maior de T reg comparado com o rim de ratinhos naives, além de que o acúmulo destas células apresenta uma localização específica, o interstício da medula exterior que é também o local mais suscetível a isquemia. (48)

Posteriormente Kinsey et al., verificou que o pré-condicionamento isquêmico é parcialmente mediado por células T reg, uma vez que estas têm a capacidade de suprimir a resposta imune, como a acumulação de neutrófilos e macrófagos, a necrose tubular e a perda da função renal causadas por uma lesão I/R uma semana após o insulto inicial. (62) O insulto inicial de I/R causa uma aumento das células CD25+FoxP3+ (fenótipo protetor), sete dias após a reperfusão. A apoiar o papel importante das T reg no pré-condicionamento, o mesmo estudo verificou que em ratinhos submetidos a pré-condicionamento tratados com anticorpo para as T reg, há acumulação de neutrófilos no rim e a proteção tanto a nível funcional como histológico é parcialmente revertida, além de que a transferência de T reg para um ratinho naive antes do insulto de I/R, mimetiza o efeito protetor e anti-inflamatório do pré condicionamento. (62)

Pré-condicionamento isquêmico remoto

Pré-condicionamento isquêmico remoto refere-se à indução de isquemia não letal num órgão de modo a proteger um outro órgão distante de uma futura lesão isquêmica. Este procedimento foi já realizado em adultos submetidos a reparo de aneurisma da aorta abdominal, sendo o pré-condicionamento remoto induzindo pela clampagem intermitente da artéria ilíaca comum. Nestes procedimentos verificou-se uma diminuição da LRA de 23%.(63) Contudo um estudo posterior mostrou-se contraditório. Neste estudo, em pacientes submetidos a cirurgia de revascularização miocárdica a incidência de LRA naqueles que foram submetidos a pré-condicionamento remoto mostrou-se igual à incidência no grupo de controlo. (64)

Nos estudos retrospectivos mais recentes, em que o pré-condicionamento é provocado por três

ciclos de 5 minutos de isquemia na extremidade superior em pacientes não diabéticos submetidos a bypass coronário, os pacientes submetidos a pré-condicionamento apresentam menor incidência de LRA. (65)

Estudos mais aprofundados da proteção fornecida tanto por pré-condicionamento isquêmico como por pré-condicionamento isquêmico remoto poderão ser elucidativos tanto na compreensão da fisiopatologia da LRA como para abrir caminho a tratamentos mais eficazes e até para a renoproteção primária. Nos últimos anos já foram feitos diversos estudos clínicos em diferentes intervenções cirúrgicas, vários deles com resultados promissores. (tabela 6) (66,67)

Pré-condicionamento na LRA	Tipo de intervenção	Outcomes
Ali et al. (2007)	Reparo de aneurisma da aorta abdominal por cirurgia aberta eletiva	Diminuição da lesão renal aguda (7% vs 30%, P= 0,01)
Walsh et al. (2009)	Reparo endovascular de aneurisma	Diminuição do rácio albumina/creatinina sem diferenças na lesão renal aguda
Venugopal et al. (2010)	Cirurgia de bypass da artéria coronária em doentes não diabéticos	Diminuição da lesão renal aguda (11% vs 25%, P= 0,01)
Zimmermann et al. (2011)	Cirurgia de bypass da artéria coronária	Diminuição da lesão renal aguda (20% vs 47%, P= 0,004)
Er et al. (2012)	Angiografia coronária eletiva em pacientes com comprometimento renal	Diminuição da lesão renal aguda (12% vs 40%, P= 0,002)
Deftereos et al. (2013)	Pacientes com enfarte do miocárdio sem elevação do segmento ST submetidos a intervenção coronária percutânea	Diminuição da lesão renal aguda (12,4% vs 29,5%, P= 0,002)

Tabela 6 – *Outcomes* de várias intervenções cirúrgicas em pacientes submetidos a pré-condicionamento remoto vs grupo controlo.(66,67)

Conclusão

As alterações patofisiológicas secundárias a lesão por I/R levam à disfunção endotelial, inflamação mediada por leucócitos e diminuição do fluxo sanguíneo microvascular. Todo este processo inflamatório pode ainda levar à rarefação dos capilares peritubulares, criando um desequilíbrio entre a oferta e a demanda de oxigênio. O ambiente de hipóxia poderá levar à fibrose e desenvolvimento de DRC perpetuando assim as consequências do evento agudo.

Atualmente a maioria dos fatores envolvidos na inflamação são encarados como potenciais alvos terapêuticos, sendo que se pretende agora não apenas evitar as consequências de uma LRA mas também evitar que o próprio insulto de I/R leve a LRA.

O papel das células T reg na I/R acentua a relevância da imunidade no processo de LRA. O conceito de pré-condicionamento assenta na mediação imunológica das T reg. Esta forma de tratamento pode ser encarada como uma prevenção, uma vez que tem por objetivo evitar a lesão aquando de um segundo insulto, após um insulto controlado e não letal.

Bibliografia

1. Hu C, McCulloch CE, Fan D, Ordoñez JD, Chertow GM, Go AS. Community-based incidence of acute renal failure. *Kidney Int.* 2007 Jul;72(2):208–12.
2. Liangos O. Epidemiology and Outcomes of Acute Renal Failure in Hospitalized Patients: A National Survey. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2005 Nov 9;1(1):43–51.
3. Longo DL, editor. *Harrison's principles of internal medicine.* 19th ed. New York: McGraw-Hill; 2015. 2 p.
4. Coca SG, Singanamala S, Parikh CR. Chronic kidney disease after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Kidney Int.* 2012;81(5):442–8.
5. Coca SG, Yusuf B, Shlipak MG, Garg AX, Parikh CR. Long-term Risk of Mortality and Other Adverse Outcomes After Acute Kidney Injury: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2009;53(6):961–73.
6. Wahrhaftig K de M, Correia LCL, Souza CAM de. RIFLE Classification: prospective analysis of the association with mortality in critical ill patients. *J Bras Nefrol.* 2012;34(4):369–77.
7. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care.* 2007;11(2):R31.
8. Ricci Z, Cruz DN, Ronco C. Classification and staging of acute kidney injury: beyond the RIFLE and AKIN criteria. *Nat Rev Nephrol.* 2011 Apr;7(4):201–8.
9. Jang HR, Ko GJ, Wasowska BA, Rabb H. The interaction between ischemia–reperfusion and immune responses in the kidney. *J Mol Med.* 2009 Sep;87(9):859–64.
10. Boros P, Bromberg JS. New Cellular and Molecular Immune Pathways in Ischemia/Reperfusion Injury. *Am J Transplant.* 2006 Apr;6(4):652–8.
11. Munshi R, Hsu C, Himmelfarb J. Advances in understanding ischemic acute kidney injury. *BMC Med.* 2011;9(1):11.
12. Sutton TA. Alteration of microvascular permeability in acute kidney injury. *Microvasc Res.* 2009 Jan;77(1):4–7.
13. Friedewald JJ, Rabb H. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *Kidney Int.* 2004;66(2):486–91.
14. Pakula AM, Skinner RA. Acute Kidney Injury in the Critically Ill Patient: A Current Review of the Literature. *J Intensive Care Med* [Internet]. 2015 Mar 9 [cited 2015 Mar 25]; Available from: <http://jic.sagepub.com/cgi/doi/10.1177/0885066615575699>
15. Sutton TA, Mang HE, Campos SB, Molitoris BA, Yoder MC, Sandoval RM. Injury of the renal microvascular endothelium alters barrier function after ischemia. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2003;

16. Brodsky SV, Goligorsky MS. Endothelium Under Stress: Local and Systemic Messages. *Semin Nephrol.* 2012 Mar;32(2):192–8.
17. Bonventre JV, Zuk A. Ischemic acute renal failure: An inflammatory disease&quest. *Kidney Int.* 2004;66(2):480–5.
18. Simmons EM, Himmelfarb J, Sezer MT, Chertow GM, Mehta RL, Paganini EP, et al. Plasma cytokine levels predict mortality in patients with acute renal failure. *Kidney Int.* 2004;65(4):1357–65.
19. Takeuchi O, Akira S. Pattern Recognition Receptors and Inflammation. *Cell.* 2010 Mar;140(6):805–20.
20. Chen GY, Nuñez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat Rev Immunol.* 2010 Dec;10(12):826–37.
21. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat Rev Immunol.* 2006 Mar;6(3):173–82.
22. Brinkmann V. Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science.* 2004 Mar 5;303(5663):1532–5.
23. Savchenko AS, Borissoff JJ, Martinod K, De Meyer SF, Gallant M, Erpenbeck L, et al. VWF-mediated leukocyte recruitment with chromatin decondensation by PAD4 increases myocardial ischemia/reperfusion injury in mice. *Blood.* 2014 Jan 2;123(1):141–8.
24. Jang HR, Rabb H. Immune cells in experimental acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol.* 2014 Oct 21;11(2):88–101.
25. Geissmann F, Manz MG, Jung S, Sieweke MH, Merad M, Ley K. Development of Monocytes, Macrophages, and Dendritic Cells. *Science.* 2010 Feb 5;327(5966):656–61.
26. Gordon S, Martinez FO. Alternative Activation of Macrophages: Mechanism and Functions. *Immunity.* 2010 May 28;32(5):593–604.
27. Locati M, Mantovani A, Sica A. Macrophage Activation and Polarization as an Adaptive Component of Innate Immunity. *Advances in Immunology* [Internet]. Elsevier; 2013 [cited 2015 Jan 11]. p. 163–84. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124170285000065>
28. Lee S, Huen S, Nishio H, Nishio S, Lee HK, Choi B-S, et al. Distinct Macrophage Phenotypes Contribute to Kidney Injury and Repair. *J Am Soc Nephrol.* 2011 Feb 1;22(2):317–26.
29. Lanier LL. NK cell recognition. *Annu Rev Immunol.* 2005;23:225–74.
30. Kim HJ, Lee JS, Kim A, Koo S, Cha HJ, Han J-A, et al. TLR2 signaling in tubular epithelial cells regulates NK cell recruitment in kidney ischemia–reperfusion injury. *J Immunol.* 2013;191(5):2657–64.

31. Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol*. 2010 Sep;11(9):785–97.
32. Peng Q, Li K, Smyth LA, Xing G, Wang N, Meader L, et al. C3a and C5a Promote Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *J Am Soc Nephrol*. 2012 Sep 1;23(9):1474–85.
33. Farrar CA, Asgari E, Schwaebler WJ, Sacks SH. Which pathways trigger the role of complement in ischaemia/reperfusion injury? *Front Immunol* [Internet]. 2012 [cited 2015 Jan 14];3. Available from: <http://journal.frontiersin.org/Journal/10.3389/fimmu.2012.00341/full>
34. Moller-Kristensen M, Wang W, Ruseva M, Thiel S, Nielsen S, Takahashi K, et al. Mannan-Binding Lectin Recognizes Structures on Ischaemic Reperfused Mouse Kidneys and is Implicated in Tissue Injury. *Scand J Immunol*. 2005 May;61(5):426–34.
35. Van der Pol P, Schlagwein N, van Gijlswijk DJ, Berger SP, Roos A, Bajema IM, et al. Mannan-Binding Lectin Mediates Renal Ischemia/Reperfusion Injury Independent of Complement Activation: MBL Is Cytotoxic to Tubular Epithelial Cells. *Am J Transplant*. 2012 Apr;12(4):877–87.
36. Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2012 Dec 7;13(1):34–45.
37. Shrivastava S, McVey JH, Dorling A. The Interface Between Coagulation and Immunity. *Am J Transplant*. 2007 Mar;7(3):499–506.
38. Semeraro F, Ammollo CT, Morrissey JH, Dale GL, Friese P, Esmon NL, et al. Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4. *Blood*. 2011 Aug 18;118(7):1952–61.
39. Duerschmied D, Suidan GL, Demers M, Herr N, Carbo C, Brill A, et al. Platelet serotonin promotes the recruitment of neutrophils to sites of acute inflammation in mice. *Blood*. 2013 Feb 7;121(6):1008–15.
40. Matsuyama M, Yoshimura R, Akioka K, Okamoto M, Ushigome H, Kadotani Y, et al. Tissue factor antisense oligonucleotides prevent renal ischemia-reperfusion injury. *Transplantation*. 2003 Sep 15;76(5):786–91.
41. Sevastos J, Kennedy SE, Davis DR, Sam M, Peake PW, Charlesworth JA, et al. Tissue factor deficiency and PAR-1 deficiency are protective against renal ischemia reperfusion injury. *Blood*. 2007 Jan 15;109(2):577–83.
42. Dong X, Swaminathan S, Bachman LA, Croatt AJ, Nath KA, Griffin MD. Antigen presentation by dendritic cells in renal lymph nodes is linked to systemic and local injury to the kidney. *Kidney Int*. 2005 Sep;68(3):1096–108.
43. Rabb H, Daniels F, O'Donnell M, Haq M, Saba SR, Keane W, et al. Pathophysiological role of T lymphocytes in renal ischemia-reperfusion injury in mice. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2000 Sep;279(3):F525–31.

44. Burne MJ, Daniels F, El Ghandour A, Mauiyyedi S, Colvin RB, O'Donnell MP, et al. Identification of the CD4(+) T cell as a major pathogenic factor in ischemic acute renal failure. *J Clin Invest*. 2001 Nov;108(9):1283–90.
45. Yokota N, Burne-Taney M, Racusen L, Rabb H. Contrasting roles for STAT4 and STAT6 signal transduction pathways in murine renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003 Aug;285(2):F319–25.
46. Burne-Taney MJ, Liu M, Ascon D, Molls RR, Racusen L, Rabb H. Transfer of lymphocytes from mice with renal ischemia can induce albuminuria in naive mice: a possible mechanism linking early injury and progressive renal disease? *AJP Ren Physiol*. 2006 May 30;291(5):F981–6.
47. Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol*. 2003 Apr;4(4):330–6.
48. Gandolfo MT, Jang HR, Bagnasco SM, Ko G-J, Agreda P, Satpute SR, et al. Foxp3+ regulatory T cells participate in repair of ischemic acute kidney injury. *Kidney Int*. 2009 Oct;76(7):717–29.
49. Martina MN, Noel S, Bandapalle S, Hamad ARA, Rabb H. T Lymphocytes and Acute Kidney Injury: Update. *Nephron Clin Pract*. 2014;127(1-4):51–5.
50. Kinsey GR, Sharma R, Okusa MD. Regulatory T Cells in AKI. *J Am Soc Nephrol*. 2013 Nov 1;24(11):1720–6.
51. BASIL DP, OSBORN JL, ROETHE K, DONOHOE D. Renal ischemic injury results in permanent damage to peritubular capillaries and influences long-term function. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2001;F887–99.
52. Goldstein SL, Devarajan P. Progression From Acute Kidney Injury to Chronic Kidney Disease: A Pediatric Perspective. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2008 Jul;15(3):278–83.
53. Liu Y. New Insights into Epithelial-Mesenchymal Transition in Kidney Fibrosis. *J Am Soc Nephrol*. 2010 Feb 1;21(2):212–22.
54. Sinha R, Nandi M, Tullus K, Marks SD, Taraphder A. Ten-year follow-up of children after acute renal failure from a developing country. *Nephrol Dial Transplant*. 2008 Oct 8;24(3):829–33.
55. Fine LG, Norman JT. Chronic hypoxia as a mechanism of progression of chronic kidney diseases: from hypothesis to novel therapeutics. *Kidney Int*. 2008;74(7):867–72.
56. Negi S, Shigematsu T. Current therapeutic strategies for acute kidney injury. *Clin Exp Nephrol*. 2012 Oct;16(5):672–8.
57. Friedrich JO. Meta-Analysis: Low-Dose Dopamine Increases Urine Output but Does Not Prevent Renal Dysfunction or Death. *Ann Intern Med*. 2005 Apr 5;142(7):510.
58. Bianchi F. Potential advantages of acute kidney injury management by mesenchymal stem cells. *World J Stem Cells*. 2014;6(5):644.

59. Wu K, Lei W, Tian J, Li H. Atorvastatin treatment attenuates renal injury in an experimental model of ischemia–reperfusion in rats. *BMC Nephrol.* 2014;15(1):14.
60. Park KM, Chen A, Bonventre JV. Prevention of Kidney Ischemia/Reperfusion-induced Functional Injury and JNK, p38, and MAPK Kinase Activation by Remote Ischemic Pretreatment. *J Biol Chem.* 2001 Apr 6;276(15):11870–6.
61. Ascon DB, Lopez-Briones S, Liu M, Ascon M, Savransky V, Colvin RB, et al. Phenotypic and Functional Characterization of Kidney-Infiltrating Lymphocytes in Renal Ischemia Reperfusion Injury. *J Immunol.* 2006 Sep 1;177(5):3380–7.
62. Kinsey GR, Huang L, Vergis AL, Li L, Okusa MD. Regulatory T cells contribute to the protective effect of ischemic preconditioning in the kidney. *Kidney Int.* 2010;77(9):771–80.
63. Ali ZA, Callaghan CJ, Lim E, Ali AA, Reza Nouraei SA, Akthar AM, et al. Remote Ischemic Preconditioning Reduces Myocardial and Renal Injury After Elective Abdominal Aortic Aneurysm Repair: A Randomized Controlled Trial. *Circulation.* 2007 Sep 11;116(11_suppl):I – 98 – I – 105.
64. Rahman IA, Mascaro JG, Steeds RP, Frenneaux MP, Nightingale P, Gosling P, et al. Remote Ischemic Preconditioning in Human Coronary Artery Bypass Surgery: From Promise to Disappointment? *Circulation.* 2010 Sep 14;122(11_suppl_1):S53–9.
65. Wenwu Z, Debing Z, Renwei C, Jian L, Guangxian Y, Pingbo L, et al. Limb ischemic preconditioning reduces heart and lung injury after an open heart operation in infants. *Pediatr Cardiol.* 2010;31(1):22–9.
66. Gassanov N, Nia AM, Caglayan E, Er F. Remote Ischemic Preconditioning and Renoprotection: From Myth to a Novel Therapeutic Option? *J Am Soc Nephrol.* 2014 Feb 1;25(2):216–24.
67. Yang Y, Lang X, Zhang P, Lv R, Wang Y, Chen J. Remote Ischemic Preconditioning for Prevention of Acute Kidney Injury: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Am J Kidney Dis.* 2014 Oct;64(4):574–83.